

The Hepatotoxic Effects of *Stachys Lavandulifolia* Vahl on Wistar Rat

Afshin Taghikhan¹,
 Roya Ansarisamani²,
 Hamid Afrogh³,
 Najmeh Shahinfard⁴,
 Furuzan Ganji⁵,
 Azam Asgari⁶,
 Fatemeh Taji⁷,
 Marziyeh Rahimi⁴,
 Samira Asgharzadeh²,
 Mahmoud Rafieian-kopaei⁸

¹ Department of Internal Medicine, Medical Plants Research Center, Faculty of Medicine, Shahrkord University of Medical Sciences, Shahrkord, Iran

² Medical Plants Research Center, Shahrkord University of Medical Sciences, Shahrkord, Iran

³ General Practitioner

⁴ Department of Midwifery, Medical Plants Research Center, Shahrkord University of Medical Sciences, Shahrkord, Iran

⁵ Department of Social Medicine, Faculty of Medicine, Shahrkord University of Medical Sciences, Shahrkord, Iran

⁶ Ph.D Student of Physiology, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran

⁷ Ph.D Student of Genesis, Tarbiat Moalem University, Tehran, Iran

⁸ Department of Pharmacology, Medical Plants Research Center, Faculty of Medicine, Shahrkord University of Medical Sciences, Shahrkord, Iran

(Received August 14, 2011 ; Accepted February 20, 2012)

Abstract

Background and purpose: *Stachys lavandulifolia* is a plant commonly used for many diseases. But so far there is no report indicating its toxicity. The aim of this study was to investigate the probable hepatotoxicity of *S. lavandulifolia* extract on Wistar rats.

Materials and methods: In this experimental study, 100 Wistar rats (about 250gr, 8-12 weeks old) were randomly divided into 10 groups (8 groups as case and 2 groups as control). They were intraperitoneally injected with *S. lavandulifolia* extract with doses of 50, 100, 150 and 200mg/kg per day for 28 days. Afterwards, the serum parameters level (ALP, AST, ALT) and pathological samples were evaluated and compared in four case group and one control group after 28 days and other groups after one month.

Results: On the first month there was significant increase on AST level only in 200mg/kg dose while ALP level significantly increased in all doses ($P < 0.05$). There was no significant difference among all doses regarding their effects on the increase of liver enzymes ($P > 0.05$). On the second month, the changes in liver enzymes were almost the same as first month, except 150mg/kg dose that significantly increased the AST level compared to control group and also this dose significantly increased the ALP level compared to 100mg/kg dose ($P < 0.05$). In examining liver samples obtained from rats in the first and second months, necrotic inflammatory reactions and fibrotic lesions significantly increased compared to control group ($P < 0.001$). In the first month we also found that there was significant difference between higher doses (150 and 200mg/kg) and lower doses (50 and 100mg/kg) regarding their effects on hepatic lesion ($P < 0.05$).

Conclusion: Since the extract of *S. lavandulifolia* causes toxicity it should be consumed with caution in people with underlying cholestatic diseases.

Keywords: Wistar rat, toxicity, *Stachys lavandulifolia* vahl, alcoholic extract

بررسی سمیت عصاره هیدروالکلی چای کوهی (*Stachys lavandulifolia* Vahl) بر کبد موش صحرایی

افشین تقی خانی^۱
رویا انصاری سامانی^۲
حمید افروغ^۳
نجمه شاهین فرد^۴
فروزان گنجی^۵
اعظم عسگری^۶
فاطمه تاجی^۷
مرضیه رحیمی^۴
سمیرا اصغرزاده^۲
محمود رفیعیان کوپائی^۸

چکیده

سابقه و هدف: چای کوهی (*Stachys lavandulifolia* vahl) گیاهی است که به طور شایع توسط مردم برای درمان بیماری‌های مختلف مصرف می‌شود ولی تاکنون اثرات توکسیک احتمالی آن گزارش نشده است. این مطالعه با هدف بررسی سمیت احتمالی این عصاره بر روی کبد موش صحرایی انجام شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۱۰۰ موش صحرایی در ۱۰ گروه شامل ۲ گروه کنترل و ۸ گروه مورد قرار داده شد و برای ۲۸ روز تحت تزریق داخل صفاقی عصاره این گیاه با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم قرار گرفتند. از ۱۰ گروه فوق، ۴ گروه مورد و یک گروه کنترل پس از ۲۸ روز و بقیه گروه‌ها یک ماه پس از آن مورد بررسی آزمایشات آنزیم‌های کبدی (ALT، AST، ALP) و بافت‌شناسی کبد قرار گرفتند و با هم مقایسه شدند.

یافته‌ها: در ماه اول افزایش ALP در همه دوزها و افزایش AST تنها در دوز ۲۰۰ mg/kg در گروه مورد نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود ($p < 0/05$) و از نظر تأثیر عصاره در افزایش آنزیم‌های کبدی بین دوزهای چهارگانه اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($p > 0/05$). در ماه دوم تغییرات آنزیم‌های کبدی مشابه تغییرات ماه اول بود به استثناء این که دوز ۱۵۰ mg/kg افزایش معنی‌داری را در مورد AST نسبت به گروه شاهد و در مورد ALP نسبت به دوز ۱۰۰ mg/kg نشان داد ($p < 0/05$). در بررسی نمونه‌های به دست آمده از کبد موش‌های صحرایی در ماه اول و دوم، واکنش‌های نکروزی-التهابی و ضایعات فیبروتیک نسبت به شاهد به صورت معنی‌دار افزایش یافته بود ($p < 0/001$). در ماه اول در رابطه با تأثیر عصاره بر روی ایجاد ضایعات کبدی (التهابی-نکروزی و فیبروتیک) بین دوزهای پایینی (۵۰ و ۱۰۰) و بالایی (۱۰۰ و ۲۰۰ mg/kg) اختلاف معنی‌دار بود ($p < 0/05$).

استنتاج: عصاره چای کوهی دارای اثرات توکسیک می‌باشد و لازم است مصرف این گیاه به ویژه در افراد دارای بیماری‌های زمینه‌ای کلاستاتیک با احتیاط صورت پذیرد.

واژه‌های کلیدی: سمیت، چای کوهی (*Stachys lavandulifolia* vahl)، موش صحرایی، عصاره هیدروالکلی

مقدمه

بدون شک برخی ترکیبات گیاهان دارویی که تا به امروز به صورت سنتی استفاده شده‌اند، مسمومیت شدید و گاه کشنده‌ای ایجاد می‌کنند. چون کبد یکی از محل‌های مهم جهت جذب، متابولیزه کردن و دفع

E-mail: rafieian@yahoo.com

مؤلف مسئول: محمود رفیعیان کوپائی - شهر کرد: دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

۱. گروه داخلی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد

۲. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد

۳. پزشک عمومی

۴. گروه مامایی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد

۵. گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد

۶. دانشجوی Ph.D فیزیولوژی، دانشگاه تربیت مدرس

۷. دانشجوی Ph.D تکوین، دانشگاه تربیت معلم

۸. گروه فارماکولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد

تاریخ دریافت: ۹۰/۵/۲۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۹۰/۷/۱۸ تاریخ تصویب: ۹۰/۱۲/۱

داروها و سایر مواد مضر است، همواره در معرض عوارض سمی داروها و مواد مختلف بوده از این نظر مورد توجه خاص می باشد.

چندین تست بیوشیمیایی در تشخیص بیماری های کبدی استفاده می شود. مهم ترین این تست ها تعیین فعالیت آمینوترانسفرازهای سرمی (AST و ALT) می باشند که نشان دهنده صدمه به هپاتوسیت ها هستند. افزایش فعالیت آن ها همیشه حضور یک بیماری فعال کبدی را هشدار می دهد (۱).

آلکالین فسفاتاز (ALP) نیز در بیماری های مرتبط با ترشح و دفع صفرا (بیماری های کلستاتیک) افزایش می یابد. از جمله گیاهانی که بر اساس باورهای سنتی مردم استان چهارمحال و بختیاری دارای خواص سقط آور می باشد گیاه لولوپشیمی یا اولیله (Stachys lavandulifolia) می باشد (۲). نام های گیاه: اولیله، لولوپشیمی، گل ارغوان، Poulk، نام انگلیسی آن Betony است (۴-۲). این گیاه از خانواده Laminacea (نعنائیان) می باشد. ترکیبات فعال این گیاه شامل فینیل اتانوئید، تریپنوئید و فلاونوئید هستند (۳).

این گیاه مقوی معده است و در درمان عفونت، آسم و بیماری های روماتیسمی استفاده می شود (۳، ۵). گیاه لولوپشیمی اثرات ضد اضطراب نیز دارد و در درمان تومورهای ژنیتال، زخم های کانسر و التهاب مؤثر است (۳، ۶). اثرات ضد میکروبی این گیاه علیه استرپتوکوک سانگوئیس نیز شناخته شده است (۷). در بعضی مطالعات نشان داده شده که عصاره متانولی بخش هوایی این گیاه، ضد التهابی عمل می کند اما در دوز کم (۵۰ mg/kg) اثر ضد التهابی ندارد (۸). علاوه بر عصاره متانولی، عصاره استونی این گیاه در دوز ۵۰ تا ۲۰۰ میلی گرم بر هر کیلوگرم اثرات ضد درد و ضد التهابی داشته است (۹).

در یک مطالعه عصاره گیاه در طی حاملگی بر رشد و نمو جنینی و بروز هر گونه ناهنجاری در موش بی تأثیر بوده است (۱۰) ولی در مطالعه ای دیگر نشان داده شده که این گیاه دارای خواص سقط آور می باشد (۱۱).

با توجه به این که گیاه چای کوهی به طور شایع توسط مردم برای درمان بیماری های مختلف مصرف می شود و تاکنون سمیت کبدی در مصرف کنندگان این گیاه، بررسی نشده است، لذا این مطالعه با هدف بررسی سمیت احتمالی این عصاره بر روی کبد موش صحرایی انجام شده است.

مواد و روش ها

روش عصاره گیری

در این مطالعه اندام های هوایی گیاه چای کوهی توسط پژوهشگر از اطراف شهر هفشجان از توابع استان چهارمحال و بختیاری جمع آوری گردید و پس از تأیید توسط متخصص گیاه شناس مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد با شماره ۲۰۴ هر بار یوم شد. بعد از گذراندن مراحل خشک شدن در سایه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، به روش پرکولاسیون و در درجه حرارت ۲۰-۱۵ سانتی گراد به کمک اتانول ۸۰ درصد عصاره گیری انجام شد. جهت عصاره گیری ۵۰۰ سی سی اتانول ۸۰ درصد بر روی ۱۰۰ گرم پودر گیاه ریخته شد تا حدی که روی آن را بپوشاند و ۲۴ ساعت بعد به پرکولاتور منتقل و پس از ۷۲ ساعت عصاره جمع شده گیاه به دستگاه تقطیر در خلاء (روتاری) منتقل و به میزان یک سوم مقدار اولیه تغلیظ گردید. سپس عصاره حاصل با استفاده از آون در حرارت ۴۰ درجه سانتی گراد خشک (۱۲، ۱۳) و سپس چهار غلظت از آن جهت مطالعه تهیه گردید.

روش مطالعه

در این مطالعه تجربی ۱۰۰ موش صحرایی با سن ۸-۱۲ هفته و وزن تقریبی ۲۵۰ گرم به طور تصادفی در ۱۰ گروه ۱۰ تایی شامل ۲ گروه کنترل و ۸ گروه مورد قرار گرفتند.

حیوانات در شرایط دمایی ۲۸-۲۲ درجه سانتی گراد در شرایط طبیعی (تاریکی و روشنایی) و تغذیه معمولی

در قفس های جداگانه در حیوان خانه نگهداری شدند. از روز ۱ تا ۲۸ مطالعه، عصاره این گیاه با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به روش داخل صفاقی به ۸ گروه مورد (هر غلظت به دو گروه) تزریق گردید. در طی این مدت به دو گروه کنترل، نرمال سالین به حجم ۰/۳ میلی لیتر تزریق شد. در روز ۲۹ مطالعه موش ها با رعایت اصول اخلاقی و با اثر بیهوش و توسط سرنگ از قلب حیوانات خون گیری شد که شامل ۴ گروه مورد و یک کنترل و ۲۸ روز پس از آن از چهار گروه مورد دیگر به همراه یک گروه کنترل (برای بررسی اثر زمان در بهبود عوارض گیاه، ۲۸ روز دیگر بدون تزریق عصاره) خون گیری جهت اندازه گیری سطح آنزیم های کبدی که شامل آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) بود، انجام شد. سطح آنزیم های کبدی هم در پایان ماه اول و هم در پایان ماه دوم مورد بررسی قرار گرفت. بعد از کالبد شکافی، نمونه های کبدی برای بررسی هیستوپاتولوژی برداشته، جهت مطالعه با میکروسکوپ نوری در فرمالین ۱۰ درصد فیکس و آماده سازی بافت انجام شد. در این مطالعه جهت اندازه گیری میزان التهاب و فیروز در بافت کبد از الگوی درجه بندی Knodell-Ishak استفاده شد (۱۴). کیت های ALP، AST و ALT نیز از شرکت پارس آزمون تهیه شد. با کمک نرم افزار SPSS 11/5 داده ها به صورت میانگین و انحراف معیار توصیف شدند و با استفاده از آزمون های t-test، ANOVA، Mann-Whitney و Duncan، Kruskal-wallis، Scheffe داده ها تحلیل گردید.

یافته ها

الف: تاثیر عصاره بر روی آنزیم های کبدی موش های صحرایی

درما اول میانگین میزان ALP در همه دوزها و AST در دوز ۲۰۰ mg/kg با گروه شاهد اختلاف معنی داری

داشتند. از نظر تغییر آنزیم های کبدی، هیچ کدام از گروه های مداخله با دیگری اختلاف معنی دار نداشتند ($p > 0/05$). در ماه دوم، میانگین میزان ALP و AST در دوزهای ۵۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری داشتند. گروه های چهارگانه دریافت کننده عصاره، در مقایسه با یکدیگر به جز دوز ۱۵۰ mg/kg که از نظر ALP نسبت به دوز ۱۰۰ mg/kg افزایش معنی داری داشت ($p < 0/05$)، از نظر آنزیم های کبدی، هیچ کدام با دیگری اختلاف معنی دار نداشتند ($p > 0/05$).

ب: یافته های هیستوپاتولوژیک

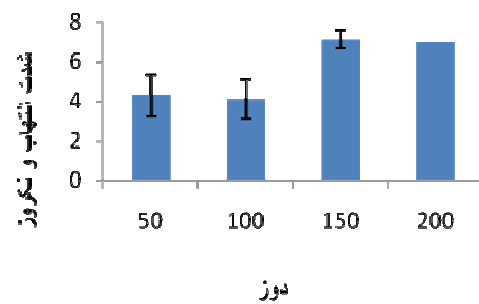
۱- آسیب شناسی بافتی کبد در موش های صحرایی در گروه شاهد هیچ گونه تغییر پاتولوژیک قابل ملاحظه ای را نشان نداد.

۲- آسیب شناسی بافتی کبد در موش های صحرایی دریافت کننده عصاره با دوزهای چهارگانه، نسبت به گروه شاهد، هم در واکنش های نکروزی التهابی و هم در ضایعات فیبروتیک، هم در ماه اول و هم در ماه دوم، اختلاف معنی داری را نشان می داد ($p < 0/01$).

۳- در ماه اول بین گروه های دریافت کننده عصاره با دوزهای ۵۰ و ۱۵۰، ۵۰ و ۲۰۰، ۱۰۰ و ۱۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم عصاره چای کوهی، هم در واکنش های نکروزی-التهابی و هم در ضایعات فیبروتیک، در آزمون Duncan اختلاف معنی دار وجود داشت ($p < 0/05$) و این اختلاف به عنوان مثال در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است.

همان طور که در نمودار مشخص است در رابطه با ضایعات کبدی تفاوت قابل ملاحظه ای بین دوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ mg/kg مشاهده می شود.

۴- در ماه دوم، درمقایسه میانگین واکنش های نکروزی-التهابی و فیبروتیک در گروه های چهارگانه موش های صحرایی دریافت کننده عصاره، بین آنها اختلاف معنی دار مشاهده نشد ($p > 0/05$).



نمودار شماره ۱: مقایسه شدت التهاب و نکروز در موش‌های صحرایی دریافت کننده دوزهای چهارگانه (۵۰-۱۰۰-۱۵۰-۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم) عصاره چای کوهی در ماه اول. اعداد براساس Mean ± S.E.M می باشد (حداکثر امتیاز برای شدت التهاب و نکروز=۱۸).

۵- در مقایسه ماه اول و ماه دوم میانگین واکنش‌های نکروزی-التهابی در کبد در ماه دوم نسبت به ماه اول، در گروه دریافت کننده دوز ۲۰۰ mg/kg کاهش قابل ملاحظه یافته بود ($p < 0.001$) و میانگین ضایعات فیبروتیک در کبد، در ماه دوم نسبت به ماه اول، در گروه دریافت کننده دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره، افزایش قابل ملاحظه یافته بود ($p < 0.05$) (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: مقایسه میانگین واکنش‌های نکروزی التهابی و ضایعات فیبروتیک بین ماه اول و ماه دوم در هر کدام از گروه‌های چهارگانه موش‌های صحرایی دریافت کننده عصاره

گروه ها (mg/kg)	ماه	واکنش های التهابی انحراف معیار ± میانگین	ضایعات فیبروتیک انحراف معیار ± میانگین
۵۰	اول	۴/۳ ± ۳/۳	۱/۹ ± ۱/۳
	دوم	۵/۴ ± ۱/۸	۲/۴ ± ۱/۲
۱۰۰	اول	۴/۱ ± ۳/۲	۲/۴ ± ۰/۵۱
	دوم	۵/۶ ± ۰/۸۱	۳/۰۰ ± ۰/۰۰
۱۵۰	اول	۷/۱ ± ۱/۲	۳/۰۰ ± ۰/۰۰
	دوم	۶/۴ ± ۰/۶۹	۳/۰۰ ± ۰/۰۰
۲۰۰	اول	۷/۰۰ ± ۰/۰۰	۳/۰۰ ± ۰/۰۰
	دوم	۶/۱ ± ۰/۳	۳/۰۰ ± ۰/۰۰
		$p = 0.14$	$p = 0.32$
		$p = 0.11$	$p < 0.05$
		$p = 0.62$	$p = 1$
		$p < 0.001$	$p = 1$

بحث

در رابطه با اثرات توکسیک چای کوهی مطالعات کمی صورت گرفته است. در مطالعه انجام شده توسط

گوهری و همکاران در مورد گونه‌ای از چای کوهی (*stachys byzanthina*) نشان داده‌اند که عصاره‌های هگزانی، اتیل استانی و متانولی *stachys byzanthina* اثرات سیتوتوکسیک از خود نشان می‌دهند و عصاره‌ی متانولی آن اثرات قوی‌تری نسبت به سایر عصاره‌ها دارد (۱۵). در مطالعه‌ای که در دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد روی اثر عصاره چای کوهی در ایجاد سقط در موش‌های سوری انجام شد، نشان داده شده است که این گیاه دارای خواص سقط‌آور می‌باشد ولی مکانیسم احتمالی سقط بررسی نشد و پیشنهاد داده شد که در مطالعات آتی این مکانیسم بررسی شود (۱۰). اما در رابطه با اثر توکسیک احتمالی چای کوهی بر روی کبد گزارشی یافت نشد. نتایج نشان می‌دهد در پایان ماه اول، عصاره باعث شده است که ALP در تمام گروه‌های چهارگانه دریافت کننده‌ی عصاره، نسبت به شاهد افزایش قابل ملاحظه داشته باشد که احتمالاً در نتیجه اثر توکسیک بر روی سلول‌های مجاری صفراوی یا غشاء کانالیکولی هپاتوسیت ایجاد شده است (۱۶). می‌توان چنین نتیجه گرفت که احتمالاً دوز بی خطر دارو در این مورد باید زیر مقدار ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم باشد.

همچنان در پایان ماه دوم (یعنی یک ماه متعاقب قطع تزریق عصاره) ALP در دوزهای ۵۰ و ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، افزایش قابل ملاحظه‌ای را نسبت به گروه شاهد، نشان می‌دهد (به دلیل نامشخصی دوز ۱۰۰ mg/kg در این رابطه معنی‌دار نبود). این بدان معنی است که حتی یک‌ماه پس از قطع تزریق عصاره، اثر توکسیک آن بر روی سلول‌های اپی تلیالی مجاری صفراوی و غشاء کانالیکولی هپاتوسیت‌ها همچنان ادامه دارد.

در پایان ماه اول AST در دوز ۲۰۰ mg/kg نسبت به شاهد، افزایش معنی‌دار داشت. افزایش نسبی AST به‌طور غیرمستقیم می‌تواند دلالت بر شدت بیشتر فرایند فیروز در کبد هم باشد که این مطلب با ایجاد ضایعات پاتولوژیکی گسترده در دوز ۲۰۰ mg/kg نیز هم‌خوانی دارد یعنی احتمالاً دوزهای بالاتر در زمان کمتری ممکن

است فرایند فیروز را آغاز نمایند. بنابراین می توان نتیجه گرفت که عصاره ی چای کوهی در دوز ۲۰۰ mg/kg می تواند اثرات توکسیک بر روی پارانشیم و سلول های کبدی داشته باشد.

گرچه از نظر آماری افزایش آنزیم های کبدی در ماه اول وابسته به افزایش دوز عصاره نبود ولی با مراجعه به جدول شماره ۲ می توان یک ارتباط نسبتاً خطی بین افزایش آنزیم های کبدی و افزایش دوز یافت.

این مطلب که AST در پایان ماه دوم نه تنها در دوز ۲۰۰ mg/kg (چنان که در ماه اول شاهد آن بودیم)، بلکه در دوز ۱۵۰ mg/kg نیز نسبت به شاهد افزایش قابل ملاحظه یافته است، حاکی از آن است که دوزهای بالاتر، سریع تر و دوزهای پایین تر کندتر اثرات تخریبی خود را به جا می گذارند.

ALP در دوزهای ۱۵۰، ۱۰۰، ۵۰ mg/kg؛ ALT در دوز ۲۰۰ mg/kg؛ AST در دوزهای ۲۰۰ و ۱۰۰ mg/kg در ماه دوم نسبت به ماه اول کاهش قابل ملاحظه داشت. این بدان معنی است که قطع مصرف عصاره پس از یک ماه، باعث کاهش نسبی اثر توکسیک آن در برخی دوزها، در برخی آنزیم های کبدی شده است (گرچه این اثر توکسیک همچنان ادامه دارد) و به عبارت دیگر با گذشت زمان بهبودی نسبی مشاهده شده است و شاید پیگیری های طولانی تر با نرمال شدن این آنزیم ها نیز همراه باشد.

با توجه به یافته ها، دوز مطمئن برای عدم ایجاد واکنش التهابی و فیبروتیک باید زیر ۵۰ mg/kg باشد زیرا در تمام دوزهای بررسی شده واکنش التهابی و فیبروتیک واضح و معنی دار نسبت به شاهد وجود داشته است.

نتایج نشان داده است در ماه اول بین دوزهای ۵۰ یا ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم از طرفی و دوز ۱۵۰ یا ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم از طرف دیگر از نظر ایجاد واکنش های نکروزی التهابی و ایجاد ضایعات فیبروتیک اختلاف قابل ملاحظه بود یعنی حد تشدید ایجاد این ضایعات بعد از ۱۰۰ mg/kg شروع می شود.

در ماه دوم نیز میانگین واکنش های نکروزی التهابی و فیبروتیک در گروه های چهارگانه موش های دریافت کننده عصاره، نسبت به شاهد معنی دار است. این بدان معنی است که حدود یک ماه پس از قطع تزریق عصاره، اثر توکسیک آن در همه دوزهای مورد مطالعه، همچنان ادامه داشته باعث تداوم واکنش های نکروزی-التهابی و فیبروتیک گردیده است.

حدود یک ماه پس از قطع عصاره، به طور میانگین پیشرفت ضایعات نکروزی-التهابی و فیبروتیک در دوزهای بالایی (۲۰۰ و ۱۵۰ mg/kg)، یا متوقف شده و یا این ضایعات کاهش یافته اند ولی در دوزهای پایینی (۱۰۰ و ۵۰ mg/kg) این ضایعات به طور میانگین افزایش یافته اند.

جدول شماره ۲: مقایسه تأثیر عصاره هیدروالکلی چای کوهی بر روی آنزیم های کبدی موش های صحرایی بین ماه اول و ماه دوم

متغیر	گروه ماه	شاهد	دوز ۵۰	دوز ۱۰۰	دوز ۱۵۰	دوز ۲۰۰
AST	اول	۹۴/۲۱ ± ۱۵۱/۶۰	۱۹۶/۸۴ ± ۲۳۶/۱۰	۲۷۵/۲ ± ۳۸۶/۹۰	۳۴۶/۲۶ ± ۳۰۶/۸۰	۱۵۶/۹۹ ± ۵۰۸/۱۰
	دوم	۸۴/۷۹ ± ۱۶۲/۳۰	۱۳۶/۸۲ ± ۳۳۴/۰۰	۱۳۵/۰۸ ± ۱۸۵/۶۰	۱۷۹/۶۶ ± ۳۴۷/۵۰	۹۳/۲۶ ± ۳۶۰/۱۰
		p = ۰/۱۸	p = ۰/۲۱	p < ۰/۰۵	p = ۰/۷۴	p < ۰/۰۵
ALT	اول	۶۴/۳۷ ± ۹۲/۰۰	۵۲/۳۵ ± ۱۰۱/۳۰	۷۹/۱۳ ± ۱۳۱/۳۰	۱۴۲/۱۹ ± ۱۷۴/۷۰	۹۹/۴۴ ± ۱۸۰/۸۰
	دوم	۵۳/۲۵ ± ۹۶/۰۰	۱۸۶/۹۷ ± ۱۸۱/۵۰	۱۰۹/۰۹ ± ۱۴۷/۱۰	۲۲۹/۲۱ ± ۲۱۰/۹۰	۱۹/۱۴ ± ۸۲/۶۰
		p = ۰/۶۹	p = ۰/۲	p = ۰/۷۱	p = ۰/۶۷	p < ۰/۰۱
ALP	اول	۴۹/۸۹ ± ۱۲۵/۴۰	۱۹۵/۹۵ ± ۷۲۳/۷۰	۱۴۴/۷۳ ± ۶۲۱/۸۰	۲۲۱/۸۸ ± ۷۲۹/۴۰	۱۸۸/۲۸ ± ۵۵۴/۶۰
	دوم	۵۴/۱۷ ± ۱۳۱/۵۰	۱۳۳/۹۴ ± ۳۲۳/۵۰	۱۱۱/۹۹ ± ۲۳۲/۸۰	۱۳۶/۴۵ ± ۴۱۸/۶۰	۱۸۲/۲۰ ± ۴۱۴/۳۰
		p = ۰/۱۴	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱	p = ۰/۱

در مقایسه با ماه اول p < ۰/۰۵ * ، p < ۰/۰۱ ** ، p < ۰/۰۰۱ *** ، (n=۱۰)

یا علل توکسیستی عصاره چای کوهی و به‌ویژه ترکیبات ترپنئیدی آن باید تحقیقات ویژه‌ای صورت گیرد. می‌توان نتیجه گرفت عصاره چای کوهی در دوزهای مورد مطالعه قادر به ایجاد اثرات توکسیک در موش صحرائی می‌باشد بنابراین پیشنهاد می‌شود که:

- ۱- افراد دارای بیماری‌های زمینه‌ای کبدی با احتیاط بیشتری این گیاه را بویژه در دوزهای بالا مصرف کنند.
- ۲- مطالعات بعدی در دوزهای زیر ۵۰ mg/kg نیز انجام شوند تا بتوان دوز تعیین‌کننده برای شروع سمیت کبدی را کشف کرد.
- ۳- تحقیقات ویژه‌ای جهت کشف مکانیسم ایجاد اثرات توکسیک این گیاه به‌عمل آید.

مطالعات بعدی در فاصله زمانی بیشتری بعد از تجویز ادامه یابد تا بتوان به این سؤال پاسخ داد که آیا واقعاً ایجاد سیروز وابسته به دوز است یا خیر؟

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به دلیل تأمین بودجه و از پرسنل مرکز تحقیقات گیاهان دارویی این دانشگاه به خاطر همکاری در اجرای طرح قدردانی می‌گردد. این مقاله حاصل پایان نامه آقای دکتر حمید افروغ می‌باشد.

References

1. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. Am J Clin Path 1957; 28: 59-63.
2. Mir heydar H. Usage of plants in prevention & treatment of deaseses. 1st ed. Tehran: Farhang eslami Publishment; 1996. p. 51.
3. Maleki N, Garjani A, Nazemiyeh H, Nilfouroushan A, Eftekhari S, Allameh H. Potent anti-inflammatory activities of hydroalcoholic extract from aerial parts of *Stachys inflata* on rat. J Ethnopharmacol 2001; 75(2-3): 218-213.
4. Feizbakhsh A. composition of essential oil of *stachys lavandulifolia vahl* from Iran. J Essen Oil Res 2003; 11(30): 112-120.
5. Babakhanlo P, Mirzai M, Sefidkon F, Ahmadi L, Barazaneh MM, Asgari F. Flor of iran. Medical and aromatic research in state of forests and rangelands. 1st ed. Tehran: Ministry of Jihad-e-Agriculture; 1998. p. 82-64 (Persian).

این یافته به دلیل اثرات تعیین‌کننده غلظت فلاونوئیدهای موجود در گیاه بر خواص آن می‌باشد. فلاونوئیدها به دلیل ناشناخته در غلظت‌های پایین‌تر خاصیت بیشتری دارند، که این خاصیت می‌تواند اثرات بیشتر عصاره ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم را توجیه نماید (۱۷). از طرفی نتایج مطالعه‌ای نشان داد که عصاره ۱۵۰ میلی گرم بیش از عصاره ۲۰۰ میلی گرم موجب سقط شده است (۱۰) که این می‌تواند یافته‌های ما را توجیه کند.

یکی از ترکیبات فعال چای کوهی ترپنئید است (۱۹، ۱۸، ۳). از طرفی در پژوهشی که روی گونه‌ای از جنس ساتوریا (مرزه) به نام *Macrantha* شده است، فعالیت سیتوتوکسیستی این نوع گیاه را ناشی از وجود ترکیبات ترپنئیدی این گونه می‌داند و به‌طور کلی اثرات سیتوتوکسیک گیاهان جنس مرزه یا ساتوریا که متعلق به خانواده نعنائیان می‌باشد را ناشی از ترکیبات ترپنئیدی و به‌خصوص تری‌ترین‌های موجود در آن‌ها که واجد اثرات قوی سیتوتوکسیک هستند، می‌دانند (۲۰، ۱۵).

پس می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً حداقل یکی از عواملی که باعث اثر توکسیک عصاره چای کوهی مورد مطالعه ما (*Stachys Lavandolifolia Vahl*) شده است می‌تواند ترکیبات ترپنئیدی آن باشد.

ممکن است عوامل دیگری نیز باعث اثر توکسیستی عصاره شده باشند. به هر حال در رابطه با علت

6. Rabbani M, Sajjadi SE, Jalali A. Hydroalcohol extract and fractions of *stachys lavandulifolia* vahl: effect on spontaneous motor activity and elevated plus-maze behaviour. *Phytother Res* 2005; 19(10): 854-858 (Persian).
7. Morteza-Semnani M, Saeedi M, Mahdavi MR, Rahimi F. Antimicrobial effects of methanolic extracts of some spices of *Stachys* and *Phlomis*. *J Mazand Univ Med Sci* 2007; 17(57): 57-66 (Persian).
8. Zargare A. Medicinal plant. Tehran: Tehran Univ Center Press; 1996. p. 619-620 (Persian).
9. Khanavi M, Sharifzadeh M, Hadjiakhoondi A, Shafiee A. Phytochemical investigation and anti inflammatory activity of aerial parts of *Stachys byzanthina* c.Koch. *J Ethnopharmacol* 2005; 97(3): 463-468.
10. Mohseni kouchesfahani H, Parivar K. Surveying the effects of *Hypericum perforatum* on Balb. *Med Sci J Islamic Azad Univ Tehran Med Branch* 2006; 16(2): 83-85 (Persian).
11. Jafarzadeh L, Asgari A, Golshan-Iranpoor F, Kheiri S, Parvin N, Rafieian M, et al. Abortifacient effects of *stachys kavandulifolia* Vahl in mice. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2010; 11(Supple 1): 26-31 (Persian).
12. Samsam Shariat H. Medicinal plant propagation. Tehran: Mani Pub; 1995. p. 297 (Persian).
13. Aynehchi Y. Pharmacognosy and medicinal plant. Tehran: Tehran Univ Center Press; 1991. p. 1042-1043 (Persian).
14. Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. *Harrison's principles of internal medicine*. Vol II. 17th ed. New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2008. p. 1845, Table 287-282.
15. Gohari AR, Saeidnia S, Gohari MR, Moradi-Afrapoli F, Malmir M, Hadjiakhoondi A., et al. Brine Shrimp Cytotoxicity of Some Medicinal Plants Belongs to Lamiaceae, Asteraceae, Rosaceae and Boraginaceae Families. *J Med Plants Res* 2009; 8(29): 87-93 (Persian).
16. Bak M, Czerniak M, Kicińska-Krogulska M, Michowicz A, Krakowiak A. Toxic liver injuries--a current view on pathogenesis. Part I. *Med Pr* 2011; 62(1): 47-55.
17. Naderi GhA, Asgari S, Movahedian A, Sabet B, Shirvani H. Anti-oxidant effects of some natural pure flavonoids on susceptibility of LDL to oxidation. *J Isfahan Univ Med Sci* 2006; 22(74,75): 57-62 (Persian).
18. Kartsev VG, Stepanichenko NN, Auelbekov SA. Chemical. Composition and pharmacological properties of plant of the genus *Stachys*. *Chem. Of Natur. Compounds* 1994; 30: 645-654.
19. Skaltsa HD, Lazari DM, Chinou IB, Loukis AE. Composition and antibacterial activity of the essential oils of *Stachys candida* and *S. chrysanthra* from Southern Greece. *Planta Med* 1999; 65: 255-256.
20. Gohari AR, Hadjiakhoondi A, Sadat-Ebrahimi SE, Saeidnia S, Shafiee A. Cytotoxic terpenoids from *Satureja macrantha*. *Daru* 2005; 13(4): 177-181.